Osaka University Knowledge Archive

Title	骨格筋小胞体のカルシウム誘起性カルシウム遊離チャンネルーその活性化と不活性化ー
Author(s)	森井, 博史
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35191
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【21】

氏名・（本籍）	森（もり） 井（い） 博（ひろ） 史（し）
学位の種類	理　学　博　士
学位記番号	第　7187　号
学位授与の日付	昭和61年3月25日
学位授与の要件	理学研究科　生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**骨格筋小胞体のカルシウム誘起性カルシウム遊離チャンネル —その活性化と不活性化—**
論文審査委員	（主査） 教　授　中村　隆雄 （副査） 教　授　原　富之　助教授　山本　泰望　教　授　岸本卯一郎

論文内容の要旨

骨格筋収縮は，筋小胞体（SR）から遊離されたCa^{2+}により誘起され，Ca^{2+}が再びSRへ能動的に取りこまれると，筋肉は弛緩する。〝Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離〟すなわち，少量のCa^{2+}がSRからの大量のCa^{2+}遊離を誘起する現象が，SRからのCa^{2+}遊離の生理的機構として考えられている。しかしながら，この機構は，細胞内に存在するmM程度のMg^{2+}で阻害される事，又，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離とCa^{2+}能動輸送の活性化条件が酷似している為，2つの現象が同時に起こる事により，細胞内では，Ca^{2+}遊離後，SRへのCa^{2+}取りこみ能が低下するため，すみやかに筋肉が弛緩できなくなるなどいくつかの問題点が残されている。そこで，筆者は，家兎骨格筋より単離したSRベシクルを用い，Ca^{2+}遊離反応の速度論的ならびに生化学的研究を行い，これらの問題点を検討した。

細胞内に存在する程度のMg^{2+}が存在すると，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離は完全に阻害された。しかしながら，Mg^{2+}存在下でも細胞内に存在するmM程度のATPにより，そのCa^{2+}遊離は顕著に活性化された。また，ADPやAMP等のアデニン・ヌクレオチドでも同様の活性化が観察された。SRからのCa^{2+}遊離反応のヌクレオチド及びCa^{2+}濃度依存性を測定した結果，Ca^{2+}遊離が2つのステップを経て起こる事が示唆された。Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離チャンネルは，アデニン・ヌクレオチドにより活性化されやすい状態となり，外液のCa^{2+}濃度が閾値を起えると全か無かの法則に従いそのゲートが開き，SRからCa^{2+}遊離が誘起された。この様なCa^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離の活性は，生理的Ca^{2+}遊離部位であるSRのterminal cisternae由来のベシクル（HSR）のみで観察され，Ca^{2+}−ATPaseが大部分を占めるlongitudinal region由来のベシクル（LSR）では，観察されなかった。

Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離チャンネルは，HSRでのATP依存性Ca^{2+}能動輸送中に不活性化される事が以下の実

験より示唆された。HSRでのCa^{2+}能動輸送の時間経過は，LSRとは異なり，遅い相とそれに続く速い相の2相性を示した。この時，Ca^{2+}−ATPase活性は，遅い相でも速い相でも変わらず一定であった。また，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離の阻害剤は，遅い相の速度を増加し，その活性化剤は抑制した。以上の結果より，Ca^{2+}能動輸送の遅い相では，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離チャンネルが活性化される為，見かけ上Ca^{2+}能動輸送効率が低下する事が示唆された。従って，この様な遅い相から速い相への変化に伴い，チャンネルの不活性化が起こる為，Ca^{2+}能動輸送速度が増加したと考えられる。他方，Ca^{2+}能動輸送終了後に速い相が観察されたと同じ濃度のCa^{2+}を加えると，SRからの顕著なCa^{2+}遊離が見られた。これらの結果は，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離チャンネルが活性化後，時間と共に不活性化され，Ca^{2+}能動輸送の速い相でその不活性化が最大に達した後，再び再活性化される事を示唆している。

次に，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離チャンネルの不活性化を制御する機構を調べた。チャンネルの不活性化は，ATP依存性Ca^{2+}能動輸送中のみに観察される事，acid phosphataseにより抑制される事，更に，不活性化されたチャンネルの再活性化が，acid phosphataseで促進される事が明らかにされた。以上の結果より，SR膜中の蛋白質の燐酸化と脱燐酸化が，Ca^{2+}誘起性Ca^{2+}遊離チャンネルの不活性化と再活性化機構に関与している事が示唆された。

論文の審査結果の要旨

骨格筋の興奮・収縮連関研究において，細胞内Ca^{2+}貯蔵部位である筋小胞体からのCa^{2+}遊離機構を解明することが最も重要な問題として残されている。この点に関して主に生筋を用いた実験から，筋小胞体外に加えた少量のCa^{2+}により小胞体から大量のCa^{2+}が遊離される〝Ca^{2+}によるCa^{2+}遊離〟現象が報告されている。しかしこのCa^{2+}遊離は，細胞内に存在する程度のMg^{2+}で阻害されることから，生理的メカニズムではないと一般的に考えられていた。さらに生理的条件下における〝Ca^{2+}によるCa^{2+}遊離〟の研究は，in vitroでの実験を行う系が確立されていなかったため殆ど進展していなかった。

森井君は，はじめに骨格筋から筋小胞体膜分画を分離・精製しCa^{2+}を受動的に取り込ませた小胞体からのCa^{2+}遊離を測定するin vitroの系を確立した。この系を用いて，Mg^{2+}存在下でもATPなどのアデニンヌクレオチドが存在していると，Ca^{2+}によるCa^{2+}遊離が単離された筋小胞体で観察されることをはじめて見出した。この発見によりCa^{2+}によるCa^{2+}遊離現象が生理的メカニズムである可能性があらためて明らかにされた。しかし，このようなCa^{2+}によるCa^{2+}遊離が細胞内で活性化されている条件は，筋小胞体によるCa^{2+}の能動的輸送の活性化される条件でもあるので，Ca^{2+}遊離後筋小胞体へのCa^{2+}再取り込みにより筋肉を弛緩させるためには，この時Ca^{2+}遊離チャンネルが不活性化される必要がある。森井君はCa^{2+}を取りこませた筋小胞体では生理的条件下でのみCa^{2+}遊離チャンネルの不活性化がおこることを見出した。さらにこの不活性化には小胞体膜タンパク質のリン酸化が関与している可能性を示した。

以上，森井君の研究は，筋小胞体からのCa^{2+}遊離機構を研究する上で重要な事実を明らかにし，骨格筋の興奮収縮連関の研究の新しい展開を可能にし，この分野に大きな貢献をなしとげたものと認められ

る。従ってこの論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。